

Figura 3. Representación gráfica de los valores de diversidad para cada estación. A: índice de Riqueza Específica No; B: índice de Diversidad H'; C: índice de Homogeneidad ES.

Figure 3. Graphic representations of the diversity values in each station. A: No Richness index; B: H' Diversity index; C: ES Evenness Index.

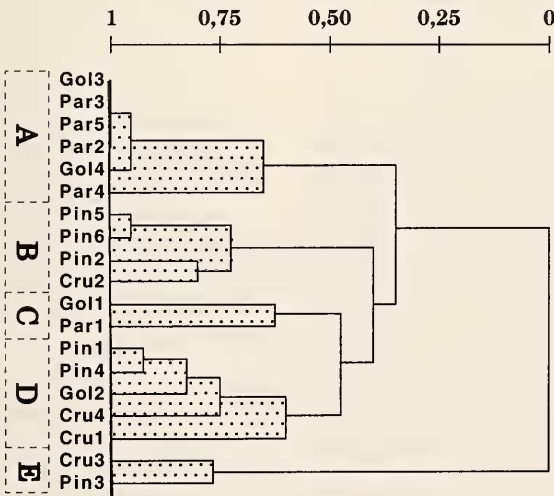


Figura 4. Dendrograma de afinidad entre estaciones, construido según el algoritmo UPGMA.

Figure 4. Dendrogram of stations classification, constructed according to the UPGMA method.

desde especies características exclusivas de la Comunidad de Arenas Finas Superficiales (SFS), como *Donax semistriatus*, *Tellina tenuis*, *Lentidium mediterraneum* y *Chamelea gallina*, hasta la Comunidad de Arenas Finas Bien Calibradas (SFBC), con *Macra stultorum*, *Tellina pulchella*, *T. nitida*, *Spisula subtruncata*, *Pandora inaequalis* y *Loripes lacteus*.

Gola es el único transecto en que se ha registrado una disminución de la salinidad en superficie (37,78‰), debida al importante aporte de aguas continentales de drenaje de l'Albufera. Este hecho no parece afectar a los moluscos allí estudiados.

Pinedo es el otro transecto que debería presentar aportes de agua del río Turia, pero no se han observado, durante la realización de los muestreos, variaciones de la salinidad, quizás por ser dichos aportes de origen estacional.

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo no hubiera sido posible sin el buen humor y buen hacer de nuestros compañeros Contxi Fuster, Eva Gascó, Jordi Silvestre, José Tena y José Juan Vicent.

BIBLIOGRAFÍA

- BONNIN, J. Y RODRÍGUEZ BABÍO, C., 1990. Catálogo provisional de los Moluscos Bivalvos marinos de la plataforma continental de la Península Ibérica y de las Islas Baleares. *Iberus*, 9 (1-2): 97-110.
- BOSCA SEYTRE, A., 1916. Fauna Valenciana. Moluscos. En Carreras y Candi, F. (Ed.): *Geografía General del Reino de Valencia*: 60-67.
- COSTA, M., GARCÍA CARRASCOSA, A. M., MONZÓ, F., PERIS, J. B., STÜBING, G. Y VALERO, E., 1984. *Estado Actual de la Flora y Fauna Marinas en el Litoral de la Comunidad Valenciana*. Excmo. Ayto. de Castellón, 209 pp.
- GINER, I., 1989. *Moluscos y Comunidades Bentónicas de la Costa de Alboraya-Albuixech (Golfo de Valencia, Mediterráneo Occidental)*. Tesis de Licenciatura (inédita). Univ. de Valencia, 225 pp.
- GINER, I., ESTEBAN, J. L., CAPACCIONI, R., BENEDITO, V., TORRES, F. J., GRAS, D., RODILLA, M., SILVESTRE, J. Y PORRAS, R., 1990. Estudio de la malacofauna asociada a los fondos de sustrato suelto del antepuerto de puerto autónomo de Valencia (Golfo de Valencia, Mediterráneo Occidental). *Resúmenes VIII Congreso Nacional de Malacología*: 86.
- GUILLE, A., 1970. Bionomie Benthique du Plateau Continental de la Côte Catalane Française. II. - Les Communautés de la Macrofaune. *Vie et Milieu*, 21 (1b): 149-280.
- HOLME, N. A., 1961. The Bottom Fauna of the English Channel. *Journal of the marine Biological Association of the United Kingdom*, 41: 397-461.
- LUDWIG, J. A. Y REYNOLDS, J. F., 1988. *Statistical Ecology. A Primer on Methods and Computing*. John Wiley and Sons, 337 pp.
- NORUSIS, M. J., 1986. *SPSS/PC+. Advanced Statistics*. SPSS Inc., 332 pp.
- PÉRÈS, J. M. Y PICARD, J., 1964. *Nouveau Manuel de Bionomie Benthique de la Mer Méditerranée. Travaux Station Marine d'Endoume*, 31 (47): 1-137.
- RIOJA LO BLANCO, E., 1920. Una campaña biológica en el Golfo de Valencia. *Anales del Instituto General y Técnico de Valencia. Trabajos del Laboratorio Hidrobiología Española*, 7: 5-36.
- ROSELLÓ, E., 1910. Los Moluscos de Valencia. *Asociación Española para el Progreso de las Ciencias*. 4 *Ciencias Naturales*, 17 pp.
- SABELLI, B., GIANNUZZI-SAVELLI, R. Y BEDULLI, D., 1991. *Catálogo Annotato dei Molluschi Marini del Mediterraneo. Vol 1*. Libreria Naturalistica Bolognese. 348 pp.
- SÁNCHEZ DIANA, A., 1982. *Fauna Alicantina II. Los Moluscos del Reino de Valencia*. Instituto de Estudios Alicantinos. Diputación Prov. Alicante, 155 pp.
- SOKAL, R. R. Y SNEATH, H. A., 1963. *Principles of Numerical Taxonomy*. W. H. Freeman and Company, 359 pp.

Recibido el 15-II-1993
Aceptado el 20-XI-1993

Microdiferenciación genética de *Mytilus edulis* y *M. galloprovincialis* en el golfo de Vizcaya

Genetic microdifferentiation of *Mytilus edulis* and *M. galloprovincialis* in the bay of Biscay

Ángel S. COMESAÑA y Andrés SANJUÁN*

RESUMEN

Mytilus edulis y *M. galloprovincialis* son dos formas de mejillones que habitan en las costas europeas, coexistiendo e hibridando en proporción variable. Se estudiaron poblaciones de mejillones de la zona híbrida de ambos *Mytilus* en el Golfo de Vizcaya (Capbreton) en una zona expuesta al oleaje y en otra resguardada cercana, y en el nivel alto y en el bajo de fijación. Los mejillones se analizaron electroforéticamente para cuatro genes enzimáticos diagnósticos entre ambos *Mytilus*: *esterasa-D*, *leucín amino-peptidasa-1*, *manosa fosfato isomerasa* y *octopín deshidrogenasa*.

Se encontró que los alelos característicos de *M. galloprovincialis* para los cuatro genes son significativamente más abundantes en las poblaciones de la zona expuesta de fijación (70 a 85%) que en las de la zona resguardada (20-70%); y en éstas, mayor en las del nivel alto (50-70%) que en las del nivel bajo (20-25%). Se confirman y generalizan así dos fenómenos anteriormente detectados en grado diverso en las Islas Británicas. Se discute la posible interacción de los factores exposición al oleaje y nivel de fijación, para comprender la composición genética y la dinámica de las poblaciones mixtas de *Mytilus*. Además, la importante microdiferenciación genética en un área que bien pudiera ser la zona de contacto de *M. edulis* y *M. galloprovincialis* más antigua y en la que cabría esperar una amplia homogeneización genética, suscita la existencia de alguna ventaja adaptativa todavía desconocida de *M. edulis* para poder mantenerse como tal en dicha área.

ABSTRACT

Mytilus edulis L. and *M. galloprovincialis* Lmk. are two forms of mussels which inhabit the European coasts, where hybridization between them occurs in variable proportions. Samples of mussels within the hybrid zone in the Bay of Biscay (Capbreton) from closely adjacent exposed and sheltered locations and, inside each one, from high and low shores were studied. Four enzyme genes, which are partially diagnostic between both *Mytilus*, were analyzed by electrophoresis: *esterase-D*, *leucine aminopeptidase-1*, *mannose phosphate isomerase* and *octopine dehydrogenase*.

The characteristic alleles of *M. galloprovincialis* for the four genes are significantly more abundant in the exposed populations (70 to 85%) than in sheltered ones (20 to 70%), and in the latter, in high shore populations (50 to 70%) than in low ones (20 to 25%). So these two phenomena, previously detected in variable degree in the British Isles, were confirmed and generalized. The possible interaction between both factors, exposure to wave action and level of attachment, are discussed to understand the genetic composition and the dynamics of the mixed populations of *Mytilus*. On the other hand, the important genetic microdifferentiation found in this area, which could be the oldest

* Xenética Evolutiva Molecular, Facultade de Ciencias, Universidade de Vigo, 36200 Vigo, España.

contact area of *M. edulis* and *M. galloprovincialis* and where an extensive genetic homogenization could be expected, suggests an unknown adaptive advantage of *M. edulis* allowing its persistence as a different form in this area.

PALABRAS CLAVE: *Mytilus edulis*, *Mytilus galloprovincialis*, polimorfismos proteínicos, genes enzimáticos, genética de poblaciones, zona híbrida, diferenciación genética, Golfo de Vizcaya

KEY WORDS: *Mytilus edulis*, *Mytilus galloprovincialis*, protein polymorphisms, enzyme genes, population genetics, hybrid zone, genetic differentiation, Bay of Biscay

INTRODUCCIÓN

Mytilus edulis Linné, 1758 y *Mytilus galloprovincialis* Lamarck, 1819 son dos formas de mejillones que habitan las costas europeas y cuyas áreas de distribución en el litoral europeo suroccidental se ha determinado recientemente. *M. galloprovincialis* se encuentra desde el Mar Mediterráneo hasta el Canal de la Mancha y las Islas Británicas, y *M. edulis* se extiende desde el litoral atlántico norte hasta tan al sur como la frontera hispanofrancesa (Fig. 1; SANJUÁN, QUESADA, ZAPATA Y ÁLVAREZ, 1986, 1990; COUSTAU, RENAUD Y DELAY, 1991; SANJUÁN, 1992; para revisión ver GOSLING, 1992a). Los estudios de genes enzimáticos y de polimorfismos de fragmentos de DNA mitocondrial con restrictasas han puesto de manifiesto que en las áreas en donde coexisten ambas formas de *Mytilus*, éstas hibridan en un grado variable que depende de las localidades (SKIBINSKI, AHMAD Y BEARDMORE, 1978; SKIBINSKI Y BEARDMORE, 1979; GOSLING Y WILKINS, 1981; SKIBINSKI, 1983, 1985; SKIBINSKI, BEARDMORE Y CROSS, 1983; EDWARDS Y SKIBINSKI, 1987; GOSLING Y MCGRATH, 1990; GARDNER Y SKIBINSKI, 1991; COUSTAU ET AL., 1991; McDONALD, SEED Y KOEHN, 1991; SANJUÁN, 1992; ver para una revisión, GARDNER, 1992 y GOSLING, 1992b).

Distintos trabajos utilizando genes alozímicos parcialmente diagnósticos entre *Mytilus edulis* y *M. galloprovincialis* han mostrado que en las áreas de las Islas Británicas en las que coexisten ambos *Mytilus*, la composición genética de estas poblaciones mixtas-híbridas de-

pende de diversos factores ecológicos. Los alelos característicos de *M. galloprovincialis* abundan más que los de *M. edulis* en las zonas expuestas al oleaje, mientras que, en las zonas resguardadas, los alelos de *M. edulis* son los predominantes (GOSLING Y WILKINS, 1977; 1981; SKIBINSKI ET AL., 1983). No obstante, SKIBINSKI Y RODERICK (1991) mencionan no haber encontrado evidencias claras de este efecto entre zonas expuestas y resguardadas en las localidades que investigan. Varias hipótesis se han planteado para tratar de explicar la diferencia en frecuencias alélicas entre ambientes expuestos y resguardados. SKIBINSKI ET AL. (1983) apuntan hacia una mortalidad selectiva de *M. edulis* frente a *M. galloprovincialis* en el período de postfijación de los mejillones. Con relación a esto, SKIBINSKI (1983), GARDNER Y SKIBINSKI (1988) y SKIBINSKI Y RODERICK (1991) han mostrado que los individuos de mayor longitud presentan una mayor frecuencia de alelos característicos de *M. galloprovincialis*, sugiriendo que existe una mortalidad diferencial entre ambos *Mytilus*. No obstante, GOSLING Y MCGRATH (1990) no encuentran una correlación entre las frecuencias típicas de *M. galloprovincialis* para los loci *Odh* y *Est-D* y la longitud de la concha (ver GOSLING, 1992b). Por otro lado, GARDNER Y SKIBINSKI (1991) y WILLIS Y SKIBINSKI (1992) han puesto de manifiesto que los individuos de *M. galloprovincialis* se sujetan con mayor fuerza al sustrato que los individuos de *M. edulis*, lo que podría explicar la menor mortali-

dad de *M. galloprovincialis* respecto a *M. edulis* en la zona expuesta frente a la zona resguardada y, por tanto, una mayor presencia de alelos característicos de *M. galloprovincialis*. También se ha encontrado que los alelos enzimáticos distintivos de *M. galloprovincialis* abundan más en las poblaciones de mejillones fijados en los niveles altos que en los bajos en las zonas expuestas de Gran Bretaña (SKIBINSKI, 1983) y quizás también en las resguardadas (SKIBINSKI Y RODERICK, 1991). En las costas expuestas de Irlanda, GOSLING Y MCGRATH (1990) han puesto de relieve también en el locus *Odh*, pero no en *Est-D*, una mayor abundancia de alelos propios de *M. galloprovincialis* en el nivel alto frente al nivel bajo de fijación.

El objetivo de este trabajo es caracterizar genéticamente las poblaciones de mejillones procedentes de una localidad de la zona híbrida del sur de la costa atlántica europea, posiblemente la zona de contacto entre *M. edulis* y *M. galloprovincialis* más antigua según la hipótesis de BARSOTTI Y MELUZZI (1968) y a la luz de los recientes resultados de SANJUÁN ET AL. (1990), COUSTAU ET AL. (1991) y SANJUÁN (1992). Las muestras proceden de un área expuesta al oleaje y otra próxima más resguardada y en cada área, de un nivel u horizonte de fijación alto y de otro bajo, con el fin de poner de relieve la incidencia y el grado de universalidad del efecto del microhábitat sobre la composición genética de las poblaciones mixtas e híbridadas de *M. edulis* y *M. galloprovincialis*.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se estudiaron cinco poblaciones de mejillones de la zona híbrida de *Mytilus edulis* y *Mytilus galloprovincialis* en la costa interna del Golfo de Vizcaya (Capbreton) (Fig. 1). Se recolectaron individuos procedentes de un área expuesta (Faro de Capbreton) y de otra resguardada del oleaje (Canal de Capbreton) separadas unos 200 metros. En ambas áreas se tomaron muestras al azar del nivel u horizonte alto y bajo (Tabla I).

Con fines comparativos se estudiaron también dos poblaciones control de *M. galloprovincialis* y una de *M. edulis* procedentes de la Ría de Vigo (NO de España) y de Holanda respectivamente.

Las muestras se recolectaron desde abril a julio de 1992, excepto la de Capbreton Faro alto (CFA) y la de Holanda (ME), que lo fueron en Marzo de 1988 y 1990 respectivamente. Los ejemplares se trasladaron vivos al laboratorio y se congelaron íntegros a -70 °C hasta su utilización. Los mejillones de Rande (GA2) se diseccionaron y se les extrajo la glándula digestiva que, dividida en dos fragmentos, sirvió como patrón en todo el proceso. Se aplicó la técnica de electroforesis horizontal en gel de almidón siguiendo las pautas de HARRIS Y HOPKINSON (1976) y PASTEUR, PASTEUR, BONHOMME, CATALÁN Y BRITTON-DAVIDIAN (1987), y se utilizó la glándula digestiva como fuente proteica. Se investigaron cuatro loci enzimáticos diagnósticos, efectivos en la identificación de las dos formas de mejillón (AHMAD Y BEARDMORE, 1976; SKIBINSKI ET AL., 1978, 1983; GRANT Y CHERRY, 1985; VARVIO, KOEHN Y VAINOLA, 1988; BEAMOUNT, SEED Y GARCÍA-MARTÍNEZ, 1989; McDONALD ET AL., 1991): *esterasa-D* (*Est-D*), *leucín amino-peptidasa-1* (*Lap-1*), *manosa fosfato isomerasa* (*Mpi*) y *octopín deshidrogenasa* (*Odh*) siguiendo los protocolos electroforéticos y la terminología indicados en SANJUÁN ET AL. (1990).

A partir de los genotipos electroforéticos observados se calcularon las frecuencias de los diferentes alelos de cada loci. Para analizar la estructura genética de las poblaciones se han calculado los estadísticos F de WRIGHT (1969) siguiendo a NEI (1977, 1986) y con las correcciones de NEI Y CHESSEY (1983) que los hacen independientes del número de muestras o subpoblaciones. La estima de F en cada población se realizó utilizando el estadístico f desarrollado por ROBERTSON Y HILL (1984).

Con objeto de sintetizar la información obtenida y de permitir un reconocimiento más fácil de las relaciones existentes entre las diferentes poblaciones, se han utilizado las técnicas estadísticas multiva-



Figura 1. Distribución geográfica de *Mytilus edulis* Linné, 1758 y de *M. galloprovincialis* Lamarck, 1819 en la costa suroccidental europea, indicando la zona de coexistencia e hibridación de ambas formas de *Mytilus* (según SANJUÁN, 1992). Se indican las localidades donde se recolectaron las muestras de mejillones.

Figure 1. Geographical distribution of *Mytilus edulis* Linné, 1758 and *M. galloprovincialis* Lamarck, 1819 in the southwestern European coast, showing the coexistence and hybridization zone (after SANJUÁN, 1992). Localities where mussel samples were taken are shown.

riable (SNEATH Y SOKAL, 1973; DUNN Y EVERITT, 1982). Se ha calculado la distancia genética de NEI (1972) entre cada par de poblaciones y a partir de la matriz de distancias se ha realizado un análisis de agrupamientos (UPGMA) y otro de ordenación (escalado multidimensional). En la representación de esta última se ha sobrepuesto el árbol expandido mínimo con el fin de visualizar posibles distorsiones locales. Para los cálculos de los di-

ferentes análisis se han utilizado los programas informáticos GENET2 (QUESADA, SANJUÁN Y SANJUÁN, 1992) y NTSYS (ROHLF, 1990).

RESULTADOS

Las poblaciones analizadas con su grado de exposición, nivel de fijación y su situación geográfica, se muestran en

Tabla I. Poblaciones de mejillones analizadas de *Mytilus galloprovincialis* (GA), *M. edulis* (ME) y de la zona híbrida de ambas formas (C), con indicación del grado de exposición al oleaje y del nivel del horizonte de recolección de las muestras. Cod es un identificador de las poblaciones y N es el tamaño máximo de la muestra.

Table I. Studied populations of *Mytilus galloprovincialis* (GA), *M. edulis* (ME) and the hybrid zone (C), showing the degree of wave action and the collection zones. Cod is a population code and N the maximum sample size.

Población	Cod	Localidad	N	Exposición y nivel del horizonte
Holanda 2B	ME	Holanda, Cultivo	34	Protegida, Bajo
Capbreton 3A	C3A	Capbreton, Canal	132	Protegida, Alto
Capbreton 3BC	C3BC	Capbreton, Canal	133	Protegida, Bajo
Capbreton 4A	C4A	Capbreton, Faro	123	Expuesto, Alto
Capbreton 4B	C4B	Capbreton, Faro	133	Expuesto, Bajo
Capbreton FA	CFA	Capbreton, Faro	133	Expuesto, Bajo
Patos B	GA1	Patos (Ría de Vigo)	126	Protegida, Bajo
Rande B	GA2	Rande (Ría de Vigo)	133	Protegida, Bajo

la Tabla I y en la Figura 1. Las frecuencias alélicas se presentan en la Tabla II agrupando, para cada *locus* enzimático, los alelos característicos de *Mytilus edulis* en el alelo compuesto «E», los típicos de *M. galloprovincialis* en el «G» y los restantes en «otros» (véase SANJUÁN, 1992). Las poblaciones de la zona híbrida presentan frecuencias alélicas de «E» y «G» intermedias entre las poblaciones control de *M. edulis* (ME) y de *M. galloprovincialis* (GA). Las poblaciones de la zona expuesta (C4A, C4B y CFA) presentan para los cuatro *loci* enzimáticos una mayor frecuencia de los alelos G, típicos de *M. galloprovincialis* (desde 0,714 a 0,975) que las poblaciones de la zona resguardada (0,192 a 0,679). Cabe señalar que para todos los casos, los alelos E, típicos de *M. edulis*, se comportan de manera complementaria a los de los alelos G. Por otro lado, en la zona resguardada, la población del nivel bajo (C3BC), muestra unas frecuencias de los alelos G que oscilan desde 0,192 a 0,252, mientras que las del nivel alto (C3A) son intermedias entre los casos anteriores (0,357 a 0,679). Se detecta así una significativamente mayor frecuencia de los alelos G en el nivel alto frente al nivel bajo en la zona res-

guardada (diferencias significativas al 0,001 en las χ^2 de homogeneidad para los cuatro *loci*). En las poblaciones de la zona expuesta muestreada en la misma época (C4), no se detectan diferencias significativas de las frecuencias alélicas mediante la χ^2 de homogeneidad entre la muestra del nivel alto (C4A) y la del nivel bajo (C4B), aún cuando sí se puede observar una ligera pero consistente mayor proporción de los alelos G para los cuatro *loci* en el nivel alto (C4A) que en el bajo (C4B) (el test no paramétrico de Wilcoxon da diferencias significativas al 5%).

En la Tabla III figuran las estimas de las desviaciones de las proporciones del equilibrio Hardy-Weinberg (HWE) por *locus*, calculadas mediante el estadístico *f* de ROBERTSON Y HILL (1984) con su error estándar, así como el test χ^2 de bondad de ajuste al HWE. El examen de estas estimas pone de relieve que la mayoría de las poblaciones de la zona híbrida (C) presentan un déficit de heterocigotos (valores positivos de *f*), indicativos de una posible mezcla de poblaciones con frecuencias alélicas distintas (efecto Wahlund). La Tabla IV muestra las estimas de los índices de fijación de WRIGHT (1969) según NEI (1977, 1986) y

Tabla II. Frecuencias de los alelos típicos de *Mytilus edulis* (E) y *M. galloprovincialis* (G) de los loci diagnóstico entre ambas formas de *Mytilus* en las poblaciones analizadas. N es el tamaño de la muestra.

Table II. Frequencies of the typical alleles of *Mytilus edulis* (E) and *M. galloprovincialis* (G) at the diagnostic loci between both forms of *Mytilus* in the studied populations. N is the sample size.

Locus	ME	C3A	C3BC	Población				
				C4A	C4B	CFA	GA1	GA2
<i>EstD</i>								
G.	0,074	0,581	0,192	0,781	0,729	0,803	0,894	0,902
E	0,897	0,378	0,771	0,174	0,244	0,159	0,043	0,034
otros	0,030	0,040	0,038	0,045	0,028	0,039	0,063	0,064
N	34	123	133	121	129	132	126	133
<i>Lap1</i>								
G	0,030	0,608	0,252	0,820	0,759	0,763	0,891	0,866
E	0,956	0,378	0,748	0,149	0,220	0,236	0,086	0,101
otros	0,015	0,013	0,000	0,030	0,020	0,000	0,024	0,032
N	34	115	119	117	127	93	64	123
<i>Mpi</i>								
G	0,044	0,679	0,252	0,858	0,792	0,975	0,938	0,970
E	0,941	0,321	0,748	0,142	0,208	0,025	0,049	0,017
otros	0,015	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,012	0,013
N	34	120	129	123	120	20	81	117
<i>Odh</i>								
G	0,031	0,537	0,245	0,747	0,714	0,737	0,851	0,818
E	0,938	0,439	0,748	0,222	0,252	0,256	0,117	0,174
otros	0,031	0,024	0,008	0,030	0,035	0,006	0,032	0,008
N	32	123	131	117	133	78	94	132

NEI Y CHESSER (1983) (F'_{IS} , F'_{IT} y F'_{ST}) para las poblaciones de la zona híbrida (C). Los valores relativamente altos de F'_{ST} (desde 0,0975 a 0,3483) y significativos al 0,1% (χ^2 de homogeneidad) para los loci diagnóstico, son indicativos de un grado de diferenciación importante en una distancia de menos de 200 m. Estos valores de F'_{ST} elevados y las frecuencias alélicas intermedias en diferente grado entre las que presentan las poblaciones puras de *M. edulis* y *M. galloprovincialis* ponen de manifiesto la mezcla de los dos acervos genéticos en una proporción que varía con el microhábitat.

A partir de la matriz de distancias genéticas (NEI, 1972) se ha construido un dendrograma UPGMA (Fig. 2) donde se

observan dos grupos bien diferenciados: uno formado por la población control de *M. edulis* (ME) y la población de la zona resguardada baja (C3BC) y otro con las dos poblaciones control de *M. galloprovincialis* (GA_) y el resto de poblaciones de la zona híbrida. En este segundo grupo se separan las poblaciones control de *M. galloprovincialis* (GA) de las de la zona híbrida del área expuesta (C), situándose en posición aparte la población de la zona resguardada alta (C3A). Esta relación se clarifica en la disposición espacial que se puede observar en el escalado multidimensional con sobreimpresión del árbol expandido mínimo que se muestra en la Figura 3, en la que se observa que las poblaciones de la zona híbrida presentan una posición interme-

Tabla III. Estimaciones de las desviaciones de las proporciones de equilibrio Hardy-Weinberg (HWE) para los loci diagnóstico *Est-D*, *Lap-1*, *Mpi* y *Odh* en las poblaciones de *Mytilus edulis* (ME), *M. galloprovincialis* (GA) y de la zona híbrida de ambas formas (C). *f* es la estimación de ROBERTSON Y HILL (1984) con su error estándar ($f \pm SE$). χ^2 es la prueba de ji-cuadrado de ajuste a las proporciones esperadas en HWE.

Table III. Estimation of the deviations from the equilibrium Hardy-Weinberg (HWE) proportions at the diagnostic loci *Est-D*, *Lap-1*, *Mpi* and *Odh* in the populations of *Mytilus edulis* (ME), *M. galloprovincialis* (GA) and the hybrid zone (C). *f* is the ROBERTSON AND HILL's (1984) estimate, together with its standard error ($f \pm SE$). χ^2 is the chi-square test of fit to the HWE expected proportions.

Locus	Poblaciones							
	ME	C3A	C3BC	C4A	C4B	CFA	GA1	GA2
<i>Est-D</i>								
<i>f</i>	-0,071	0,277**	0,234**	0,140	0,423***	-0,004	-0,048	-0,047
SE	$\pm 0,172$	$\pm 0,090$	$\pm 0,087$	$\pm 0,091$	$\pm 0,088$	$\pm 0,087$	$\pm 0,063$	$\pm 0,061$
χ^2	0,45	12,84 *	14,30 **	4,03	25,17 ***	1,28	1,78	1,56
<i>Lap-1</i>								
<i>f</i>	0,242	0,123*	0,243***	0,051	0,019	0,159*	0,512***	0,194**
SE	$\pm 0,172$	$\pm 0,054$	$\pm 0,053$	$\pm 0,065$	$\pm 0,051$	$\pm 0,073$	$\pm 0,088$	$\pm 0,064$
χ^2	2,46	20,08 **	30,30 ***	8,96	10,08	8,51	38,49 ***	15,98 *
<i>Mpi</i>								
<i>f</i>	-0,001	0,144	0,200*	0,185*	-0,006	0,000	-0,048	0,328***
SE	$\pm 0,172$	$\pm 0,091$	$\pm 0,088$	$\pm 0,090$	$\pm 0,091$	$\pm 0,224$	$\pm 0,111$	$\pm 0,065$
χ^2	-	2,34	4,94 *	3,97*	0,01	0,01	0,35	8,92 **
<i>Odh</i>								
<i>f</i>	0,507***	0,142*	0,245***	0,178**	0,213***	0,153	0,091	0,107
SE	$\pm 0,125$	$\pm 0,064$	$\pm 0,062$	$\pm 0,065$	$\pm 0,061$	$\pm 0,080$	$\pm 0,073$	$\pm 0,062$
χ^2	8,03 **	12,25	16,88***	25,13**	16,78 *	5,38	4,58	4,89
* $p < 0,05$ ** $p < 0,01$ *** $p < 0,001$ (Prueba de significación para $f=0$, ROBERTSON Y HILL, 1984).								

Tabla IV. Estimaciones de los índices de fijación de Wright (F'_{is} , F'_{IT} y F'_{ST}) (según NEI Y CHESSER, 1983) para las poblaciones de la zona híbrida de *Mytilus galloprovincialis* y *M. edulis*. χ^2 es el valor de la prueba ji-cuadrado de homogeneidad.

Table IV. Estimates of the Wright's fixation indices (F'_{is} , F'_{IT} y F'_{ST}) (after NEI AND CHESSER, 1983) in the populations of the hybrid zone of *Mytilus galloprovincialis* and *M. edulis*. χ^2 is the homogeneity chi-square value.

locus	F'_{is}	F'_{IT}	F'_{ST}	χ^2
<i>Est-D</i>	0,1959	0,3923	0,2443	326,9***
<i>Lap-1</i>	0,1194	0,2053	0,0975	252,7***
<i>Mpi</i>	0,1183	0,4254	0,3483	267,8***
<i>Odh</i>	0,1670	0,2587	0,1101	210,0***
* $p < 0,05$ ** $p < 0,01$ *** $p < 0,001$ (Nivel de significación para la prueba de χ^2 de homogeneidad).				

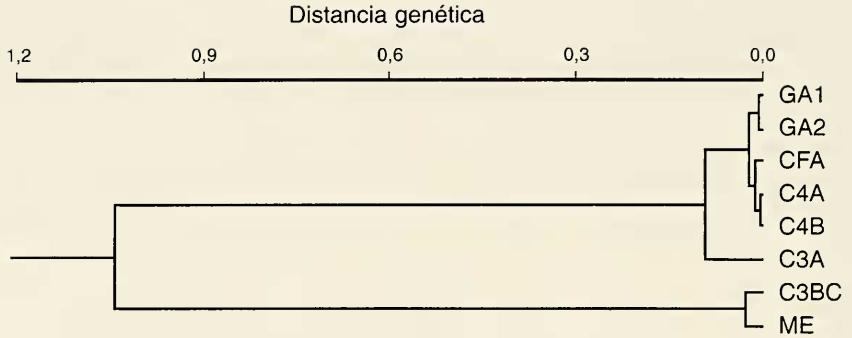


Figura 2. Dendrograma UPGMA de las poblaciones de mejillón de la zona híbrida (C) y de las poblaciones control de *Mytilus galloprovincialis* (GA) y de *M. edulis* (ME) utilizando la matriz de distancias genéticas (ver NEI, 1972) obtenida de las frecuencias alélicas de los loci *Est-D*, *Lap-1*, *Mpi* y *Odh*. El coeficiente cofenético es de $r = 0,829$.

Figure 2. UPGMA dendrogram of mussel populations from the hybrid zone (C) and *Mytilus galloprovincialis* (GA) and *M. edulis* (ME) control populations, using the genetic distance matrix (after NEI, 1972) obtained from the allele frequencies of *Est-D*, *Lap-1*, *Mpi* and *Odh* loci. Cophenetic coefficient is $r = 0.829$.

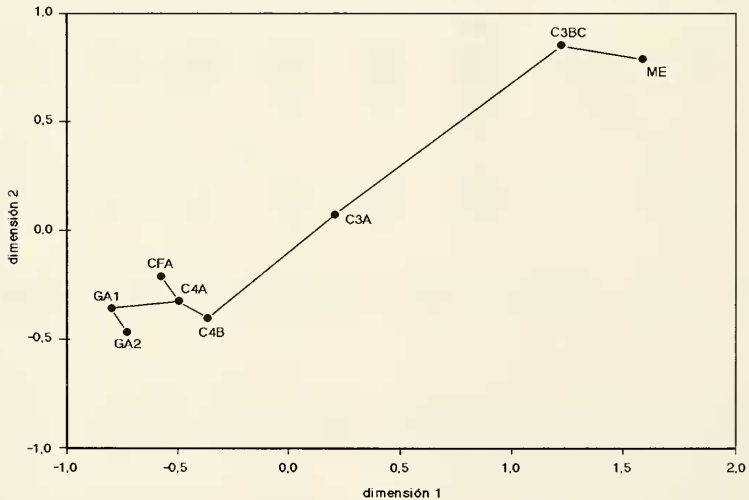


Figura 3. Escalado multidimensional no-métrico, con sobreimpresión del árbol expandido mínimo, de poblaciones de la zona híbrida (C) y de poblaciones control de *M. galloprovincialis* (GA) y de *M. edulis* (ME) utilizando la matriz de distancias genéticas (ver NEI, 1972) obtenida a partir de las frecuencias alélicas de los loci *Est-D*, *Lap-1*, *Mpi* y *Odh*. El "stress" final es $S = 0,0072$, lo que supone un ajuste excelente o perfecto.

Figure 3. Non-metric multidimensional scaling, with the minimum spanning tree superimposed, of the populations from the hybrid zone (C) and *Mytilus galloprovincialis* (GA) and *M. edulis* (ME) control populations using the genetic distance matrix (after NEI, 1972) obtained from the allele frequencies of *Est-D*, *Lap-1*, *Mpi* and *Odh* loci. Final "stress" is $S = 0.0072$, which means an excellent or perfect fit.

dia entre las extremas típicas *M. edulis* (ME) y *M. galloprovincialis* (GA), ubicándose la población de la zona resguardada baja (C3BC) próxima a la de *M. edulis* (ME), las de la zona expuesta se agrupan hacia las de control de *M. galloprovincialis* (GA) y en posición intermedia se sitúa la población de la zona resguardada alta (C3A).

DISCUSIÓN

El análisis de los cuatro *loci* enzimáticos diagnóstico (*Est-D*, *Lap-1*, *Mpi* y *Odh*) en las cinco poblaciones de la zona híbrida muestra importantes diferencias en las frecuencias alélicas de cada población estudiada, según el hábitat de donde proceden. Las poblaciones del área expuesta (C4A, C4B y CFA) presentan las frecuencias alélicas para los cuatro *loci* semejantes a las típicas de *M. galloprovincialis* (Tabla II), agrupándose así con las dos poblaciones control de *M. galloprovincialis* (GA) tanto en el dendrograma UPGMA (Fig. 2) como en el escalado multidimensional (Fig. 3). En las poblaciones de la zona resguardada, la del nivel bajo (C3BC) presenta una elevada y significativa frecuencia de los alelos típicos de *M. edulis* para los cuatro *loci* estudiados y la población del nivel alto (C3A) mantiene unas frecuencias alélicas claramente intermedias entre las de las poblaciones control de *M. galloprovincialis* (GA) y las de *M. edulis* (ME) (Tabla II). El dendrograma UPGMA y el escalado multidimensional agrupan a la población resguardada del nivel bajo (C3BC) con la control de *M. edulis*, ubicándose en posición intermedia la del nivel alto (C3A) (Figs. 3 y 4). Estos datos ponen de manifiesto la mayor proporción de los alelos típicos de *M. galloprovincialis* (G) que los de *M. edulis* (E) para los *loci Est-D*, *Lap-1*, *Mpi* y *Odh* en la zona expuesta frente a la zona resguardada. Se corrobora así este efecto encontrado por otros autores en las Islas Británicas para *Gpi*, *Lap-2* y *Pgm* (GOSLING Y WILKINS, 1977 y 1981) y para *Est-D* (SKIBINSKI ET AL., 1983), aún cuando SKIBINSKI Y RODERICK (1991) manifiesten no

haber encontrado pruebas claras de dicho efecto. Para tratar de explicar este comportamiento diferencial entre poblaciones de zonas expuestas y resguardadas, SKIBINSKI ET AL. (1983) han sugerido una mortalidad selectiva menor de los juveniles de *M. galloprovincialis* frente a los de *M. edulis*. Con relación a ésto, SKIBINSKI (1983), GARDNER Y SKIBINSKI (1988) y SKIBINSKI Y RODERICK (1991) han encontrado que la frecuencia de los alelos «G» se incrementa con el tamaño de las conchas, indicando que esta correlación bien pudiera deberse a una mortalidad diferencial mayor de los individuos juveniles de *M. edulis*, debido posiblemente a la acción de las olas o al efecto erosivo de la arena suspendida en el agua. En línea con esta argumentación, varios estudios han mostrado que, en el mismo hábitat, los individuos *M. edulis* se separan con mayor facilidad del sustrato que los *M. galloprovincialis* (GARDNER Y SKIBINSKI, 1991; WILLIS Y SKIBINSKI, 1992). Esta distinta capacidad de sujeción a la roca podría actuar como una diferencia adaptativa causante de una mayor mortalidad de los *M. edulis* juveniles frente a los de *M. galloprovincialis* en las zonas expuestas. Así se podría explicar la mayor frecuencia de alelos típicos de *M. galloprovincialis* que de *M. edulis* en estas zonas. No obstante, alguna ventaja adaptativa debe poseer *M. edulis* frente a *M. galloprovincialis* para contrarrestar los efectos de su mayor mortalidad y su consistentemente menor fertilidad (GARDNER Y SKIBINSKI, 1990), y poder mantener su identidad genética de manera aparentemente estable en el discurrir de los años en zonas híbridas (en Rock durante 30 años, según BEAUMONT, SEED Y GARCÍA-MARTÍNEZ, 1989).

Por otro lado, los resultados de este trabajo muestran diferencias en las frecuencias alélicas entre muestras procedentes de distintos niveles de fijación. En la zona resguardada, los alelos de los cuatro *loci Est-D^G*, *Lap-1^G*, *Mpi^G* y *Odh^G*, abundan más en el nivel alto (entre 50 y 70%) que en el nivel bajo, en donde predominan significativamente los alelos E, (alrededor de un 75%). Sin embargo, en la zona expuesta, no se aprecian diferen-

cias significativas en las frecuencias alélicas entre ambos niveles de fijación, aún cuando se observa la tendencia de una mayor frecuencia de los alelos G que los E (sobre un 5% más en cada *locus*) en el nivel superior frente al inferior. Estos resultados, si bien confirman la idea general de una mayor frecuencia de alelos G en los niveles superiores frente a los inferiores, por otro lado contrastan relativamente con lo encontrado en las zonas híbridas de las Islas Británicas. En zonas expuestas, SKIBINSKI (1983) ha encontrado en Gran Bretaña una mayor frecuencia de los alelos *Est-D^G*, *Lap-1^G* y *Odh^G* en los niveles altos frente a los bajos, mientras que GOSLING Y MCGRATH (1990), en la costa Oeste de Irlanda, tan sólo han detectado diferencias significativas en el *locus Odh* pero no en *Est-D*. No obstante, el trabajo de SKIBINSKI Y RODERICK (1991) parece sugerir que este efecto en *Est-D* se ha detectado tanto en zonas resguardadas como en expuestas de Gran Bretaña. Por otro lado, la anteriormente señalada correlación entre la frecuencia de los alelos característicos de *M. galloprovincialis* y la edad de los individuos (SKIBINSKI, 1983; SKIBINSKI Y RODERICK, 1991), junto con la interacción de los distintos factores ambientales condiciona la comprensión de la composición genética y la dinámica de las poblaciones mixtas de *Mytilus*. Así, GOSLING Y MCGRATH (1990) han encontrado, en dos localidades expuestas, diferencias en las frecuencias alélicas de mejillones del nivel medio y del bajo mostrando respectivamente una frecuencia del alelo *Odh^G* de 0,612 y 0,544 en Ballynahown y de 0,549 y 0,414 en Carraroe. En el presente trabajo, en la zona expuesta de Capbreton, la frecuencia de *Odh^G* es de 0,747 en el nivel alto y de 0,714 en el bajo. La comparación de los datos indica que en Capbreton hay un porcentaje considerablemente mayor de los alelos *Odh^G* que en Ballynahown o Carraroe; esta diferencia podría ser indicativa de que el agente selectivo (por ejemplo, la exposición al oleaje actuando sobre la diferente fuerza de fijación al sustrato de *M. edulis* y *M. galloprovincia-*

lis) está incidiendo más intensamente en Capbreton que en las dos poblaciones irlandesas, si se considera la correlación encontrada entre la intensidad de exposición al oleaje y la frecuencia del alelo *Est-D^G* (= *Est-D^S*; SKIBINSKI ET AL., 1983). Además, bien podría pensarse que la intensidad del agente selectivo puede llegar a ser tan elevada que otros factores (como los que contribuyen a establecer las diferencias de hábitat alto/bajo) podrían disminuir relativamente en importancia, de modo que el primer factor estaría homogeneizando decisivamente el hábitat de la zona expuesta anulando las diferencias genéticas correlativas entre las poblaciones mixtas de *Mytilus* de niveles altos y bajos. La utilización de una escala de exposición al oleaje podría ayudar a comprender en un futuro la interacción de los distintos factores selectivos. Por tanto, hasta el momento, no parece existir una clara concordancia en la constatación y delimitación de dicho fenómeno, precisando seguramente de más análisis que tengan en cuenta la edad de los individuos y/o larvas y la amplitud e intensidad de los factores de los distintos ambientes objeto de estudio.

No obstante, varias hipótesis se están barajando para dar cuenta de esta microdiferenciación. Como explicaron GOSLING Y MCGRATH (1990), las diferencias genéticas entre los mejillones de distintos niveles de fijación pueden deberse a cohortes genéticamente diferentes de las larvas que se fijan preferentemente en distintos niveles de la costa o bien a que las larvas que llegan a la costa sean genéticamente homogéneas y una vez fijadas diverjan genéticamente por la presión selectiva de distintos agentes como por ejemplo, por el diferente grado de exposición al aire según el nivel de fijación. SKIBINSKI, (1983) y SKIBINSKI Y RODERICK (1991) se inclinan por esta última hipótesis sosteniendo que *M. galloprovincialis* esta mejor adaptado que *M. edulis* a sujetarse al sustrato y a explotar más favorablemente el espacio disponible por razón de su peculiar morfología. Sin embargo, las dife-

rencias génicas en *Est-D* y *Lap-1* entre cohortes de larvas que se fijaron en cuerdas en momentos distintos en el periodo de 2 semanas (GOSLING Y WILKINS, 1985), y las diferencias génicas en *Est-D* y *Odh* encontradas entre mejillones fijados en distintos niveles (GOSLING Y MCGRATH, 1990) apuntan hacia diferencias genéticas originadas ya en la fase larvaria o bien en los primeros estadios después de la fijación (hasta un mes). Por otro lado, en el caso de diferencias en estadios tan juveniles, no parece aceptable pensar, por razón del pequeño tamaño de ambos *Mytilus*, en una ventaja adaptativa morfológica de *M. galloprovincialis* frente a *M. edulis* con respecto al espacio; además, en los hábitats en los que abundan los alelos G es donde tiene lugar una mayor convergencia morfológica de la forma fenotípicamente más plástica *M. galloprovincialis* hacia la más homogénea *M. edulis* (SEED, 1978; GOSLING, 1984).

Sean cuales sean los factores ambientales que conforman las diferencias genéticas de los ambientes expuesto/resguardado y nivel alto/bajo, éstos parecen interaccionar entre sí de manera que la composición genética de las poblaciones mixtas de *Mytilus* no resulta fácilmente previsible. Sin embargo, parece claro que estos diferentes hábitats deberán tenerse en cuenta a la hora de tratar de entender los distintos aspectos de la dinámica de las zonas híbridas de ambos *Mytilus*, como por ejemplo la ausencia de gradientes génicos claros en la zona de contacto en la costa atlántica continental (COUSTAU ET AL., 1991). Valga la consideración de que precisamente el área investigada en el presente trabajo bien pudiera ser la zona de contacto de *M. edulis* y *M. galloprovincialis* más antigua según la hipótesis de BARSOTTI Y MELUZZI (1968) en la que se supone que la presencia de *M. galloprovincialis* en las costas noroccidentales de Europa se atribuye a una migración desde el Mar Mediterráneo. Recientemente SANJUÁN ET AL., (1986, 1990), COUSTAU ET AL., (1991) y SANJUÁN (1992) han establecido inequívocamente una distribución continua de

M. galloprovincialis desde el Mar Mediterráneo hasta el Canal de la Mancha y las Islas Británicas, haciendo más plausible la hipótesis anterior (ver GOSLING, 1992a). Por tanto, cabría esperar una amplia homogeneización genética en ese área más antigua, bien por una importante introgresión de ambos *Mytilus*, o bien por eliminación de *M. edulis* por selección direccional. Sin embargo, en Capbreton se encuentra un porcentaje importante de alelos G en la zona expuesta (70-85%), mientras que en la zona resguardada del nivel bajo tan sólo alcanza el 25% y los alelos E oscilan sobre el 75%. Si se admite en esta área una mayor mortalidad y una menor fertilidad de *M. edulis* respecto de *M. galloprovincialis* (como lo descrito en otras áreas por GARDNER Y SKIBINSKI, 1990) no resultan fáciles de explicar las diferencias génicas entre zonas tan próximas, máximo si se considera que el sentido hacia el norte de las corrientes marinas superficiales predominantes redundaría en un aporte masivo de larvas de *M. galloprovincialis*. De nuevo se suscita el problema de que alguna ventaja adaptativa deben de presentar los individuos de *M. edulis* para permanecer en una proporción no desdeñable en un área que, suponiendo actuaran los factores hasta ahora conocidos, resultaría en un proceso selectivo unidireccional con eliminación de *M. edulis* y de sus alelos característicos. ¿Y esto no parece ser lo que sucede!

AGRADECIMIENTOS

Queremos expresar nuestro agradecimiento a D^a Ángeles Santás por su participación en la recolección de las muestras de Capbreton y a la Dra. Teresa Pérez Iglesias por la habilitación de fuentes de alimentación para electroforesis. Este trabajo se pudo llevar a cabo por una Ayuda de Infraestructura Científica de la Universidad de Vigo a la Dra. Marina Horjales y por la gestión de la Decana de la Facultad de Ciencias, Dra. M^a Luisa Andrade en la adecuación del laboratorio pertinente.